Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 1, Apr. May. 2019, p.13- 24

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1398 ص. 24-13

بهبود پایداری اکسیداسیون روغن کانولا با استفاده از عصاره میوه گیاه زنیان به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی

فهیمه توریان[1]*- مریم عزیزخانی[1]

تاریخ دریافت: 1395/08/15
تاریخ پذیرش: 1396/02/18

چکیده

پذیرش مصرف آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی به علت اثرات زیان‌آور آنها بر سلامتی انسان، رو به کاهش است. در نتیجه، علاقه زیادی جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موثر وجود دارد. زنیان گیاه دارویی ارزشمند است که در طب سنتی ایران به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تحقیق حاضر به ارزیابی خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و الکلی (اتانولی و متانولی) میوه گیاه زنیان در روغن کانولا پرداخته شده است. به جهت بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، از دو آزمون بررسی میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و سامانه بتاکاروتن/ لینولئیک اسید استفاده شد. همچنین، رفتارآنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه زنیان در روغن کانولا، با اندازه‌گیری اعداد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمون بی‌رنگ شدن بتاکاروتن، بیشترین بازدارندگی در غلظت 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را BHT (0/09 ± 96%) نشان داد و سپس عصاره اتانولی (0/0 ± 76%) قرار داشت. سپس در سامانه $DPPH^{\circ}$ و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن، ابتدا قدرت فعالیت آنتی‌اکسیدانی BHT و بعد عصاره اتانولی در سطح غلظتی 400 و 600 ppm قرار گرفت. در آزمون گرمخانه‌گذاری، عصاره‌ها توانایی جلوگیری از تولید محصولات اولیه و ثانویه اکسیداسیون، در روغن کانولا را داشتند. همچنین نتایج آماری نشان داد که عصاره اتانولی در غلظت600 ppm تفاوت معناداری در عدد پراکسید و TBARS در مقایسه با غلظت BHT 200 ppm نداشته ($p>0/05$) ولی عصاره آبی و متانولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایین‌تری داشتند ($p<0/05$). با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان از گیاه زنیان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی در مواد غذایی به‌ویژه روغن‌های خوراکی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: زنیان، عصاره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، روغن کانولا.

مقدمه

اکسیداسیون چربی یکی از واکنش‌های نامطلوب است که کیفیت روغن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Grosch, 1987) و در طی مراحل اکسیداسیون، ترکیبات اکسیژنه و مخرب تولید می‌شوند و که سبب تغییرات تغذیه‌ای، کاهش ارزیابی حسی روغن می‌گردد. شدت تغییرات چربی به ویژگی‌های فیزیکی روغن، به‌خصوص درجه اشباع اسیدهای چرب و حضور عوامل تشدیدکننده اکسیداسیون مانند، قرار گرفتن در معرض نور و اکسیژن، حضور یون‌های فلزی و دمای بالا بستگی دارد (Achir *et al.*, 2006; Grand, 1992). همه این عوامل بر میزان اکسیداسیون چربی تاثیر می‌گذارند که به آسانی قابل تفکیک از یکدیگر نمی‌باشند. آنتی‌اکسیدان‌ها نیز در اکسیداسیون چربی دخالت دارند. این ترکیبات می‌توانند از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد روغن، مرحله شروع یا گسترش اکسیداسیون را قبل از آسیب به اسیدهای چرب مهار کنند. برخی از آن‌ها می‌توانند فلزات شلاته‌گر یا انواع اکسیژن‌های واکنش‌پذیر را غیرفعال کنند. هنگامی که رادیکال‌های تولید شده از آنتی اکسیدان‌ها با هم واکنش می‌دهند، محصولات غیررادیکال تولید می‌شوند و واکنش متوقف می‌شود.

توکوفرول‌ها و ترکیبات فنلی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان ذاتی روغن و یا اضافه شده معروف‌اند (Peyrat-Maillard *et al.*, 2003; Warner, 2005; Yanishlieva *et al.*, 2002) که راندمان قابل مقایسه‌ای با آنتی اکسیدان‌های سنتزی استاندارد دارند (Bera *et al.*, 2006). آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT) و بوتیلات هیدروکسی انیزول (BHA) اغلب به روغن‌های فرآوری شده برای کاهش سرعت اکسیداسیون در طول ذخیره‌سازی و سرخ کردن افزوده می‌شود.

با این حال، مانند بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌های ذاتی روغن، حفاظت آن‌ها در طول سرخ کردن مواد غذایی کم بوده و یا از بین می‌رود، زیرا آن‌ها تبخیر و یا تجزیه می‌شوند، و در نتیجه به اندازه

1 - استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری- های نوین آمل، آمل، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: f.tooryan@ausmt.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1396i0.60120

کافی در طول سرخ کردن باقی نمی‌مانند و محافظت نمی‌کنند (Augustin and Berry, 1983; Parkash Kochhar and Gertz, 2004). به همین دلیل در کنار عملکرد ضعیف آن‌ها تحت شرایط سرخ کردن و با توجه به اثر مضر آن‌ها بر سلامتی انسان، پذیرش آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی برای مصرف‌کنندگان مشکل می‌باشد، در نتیجه مصرف‌کنندگان به دنبال استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند. اخیرا، مطالعات متعددی بر روی کاربرد عصاره‌های بخش‌های مختلف گیاهان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی انجام شده است (Achat *et al*., 2012; Al-Bandak and Oreopoulou, 2011; Houhoula *et al*., 2004; Kalantzakis and Blekas, 2006; Man and Jaswir, 2000; Pereira Moura Aranha and Jorge, 2012). در میان گیاهان دارویی، زنیان متعلق به خانواده چتریان به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است. گیاه زنیان به‌طور گسترده در مناطق با خاک شور، خشک و نیمه خشک رشد می‌کند و به بخش‌های مختلف این گیاه، خواص دارویی و درمانی نسبت داده شده است. (Ashraf, 2002; Ashraf and Orooj, 2006; Munns, 2002; Krishnamoorthy, 19992006;). Bera و همکاران (2006) اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره زنیان (Ajowan ادویه مورد استفاده در هند) را در روغن برزک بررسی و با آنتی اکسیدان-های سنتزی BHT، BHA و TBHQ مقایسه کردند و نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره نسبت به BHT و BHA بیشتر ولی نسبت به TBHQ کمتر بود. این محققان عصاره زنیان را به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی پیشنهاد کردند، زیرا علاوه بر بهبود پایداری روغن، ارزش غذایی آن را نیز افزایش داد. با وجود تحقیقات متعدد بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه زنیان، منابع اندکی را می‌توان در مورد خصوصیات آنتی‌اکسیدانی عصاره آن در مواد غذایی پیدا نمود. لذا هدف از انجام این تحقیق ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدان (میزان مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، سامانه بتاکاروتن/ لینولئیک اسید و TBARS) عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی میوه گیاه زنیان و همچنین تاثیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف این عصاره‌ها بر روی پایداری اکسایشی روغن کانولا و مقایسه کارایی آن‌ها با BHT به‌عنوان آنتی‌اکسیدان سنتزی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شیمیایی

در این مطالعه، میوه گیاه زنیان در شهریور ماه از استان کرمان تهیه و استفاده شد، روغن کانولا (تصفیه شده، بی‌رنگ شده، بی‌بو شده و بدون آنتی‌اکسیدان) از کارخانه روغن نباتی بهشهر تهران تهیه شد. تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده با درصد خلوص بالا از شرکت مرک آلمان و رادیکال آزاد 2 و 2- دی فنیل 1-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، بتا کاروتن، لینولئیک اسید و BHT از شرکت سیگما آمریکا تهیه شدند، تمام مواد شیمیایی با خلوص بالا بدون هیچ‌گونه خالص‌سازی مجدد مورد استفاده قرارگرفتند.

استخراج عصاره‌های گیاهی:

الف- عصاره‌های الکلی (CE= عصاره اتانولی و CM= عصاره متانولی):10 گرم پودر آسیاب شده میوه زنیان در 50 میلی‌لیتر اتانول 96 درصد و متانول 80 درصد ریخته شد و به‌مدت 72 ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری و هرچند ساعت یکبار همزده شد. سپس مایع رویی جدا و به‌روش ماسراسیون در دستگاه روتاری تحت خلا تا 98 درصد تغلیظ و خشک گردید و در نهایت عصاره در دستگاه خشک کن انجمادی به پودر تبدیل شدند و تا زمان آزمایش در ظرف در بسته و محافظ در برابر نور در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد.

ب- عصاره آبی(CA): 25 گرم از پودر آسیاب شده میوه، داخل بالن یک لیتری ریخته شد و به آن 300 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و با با استفاده از صفحات گرم‌کننده برای مدت 1 ساعت مخلوط دردمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس مخلوط حاصل به مدت 24 ساعت و در شرایط تاریکی روی شیکر قرار و سپس مخلوط آب و پودر، به‌وسیله کاغذ صافی، واتمن شماره 1 از بخش جامد جدا شد. عصاره ابتدا توسط تبخیرکننده دوار تحت خلا ، در دمای 40 درجه سانتی‌گراد تا 96 درصد تغلیظ و در نهایت عصاره در دستگاه خشک کن انجمادی به پودر تبدیل شدند.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی

مقدار کل ترکیبات فنولی به روش فولین سیوکالته با روش اسلینکارد و سینگلتون (1997) اندازه گیری شد. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید رسم گردید و مقدار کل ترکیبات فنولی بر اساس گرم در هر 100گرم عصاره پودر شده بیان شد. به‌منظور اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی نیز از روش اسپکتروفتومتری (Chang *et al*., 2002) استفاده و مقدار ترکیبات فلاونوئیدی بر اساس گرم معادل کوئرستین در هر گرم 100 عصاره پودر شده تعیین گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس حذف رادیکال‌های DPPH

بررسی فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌ها، با استفاده از DPPHانجام گرفت (Shahsavari *et al*., 2008). در این آزمون، رادیکال

چربی‌دوست DPPH° با آنتی‌اکسیدان‌های دهنده هیدروژن، واکنش می‌دهد. در این آزمایش عصاره در غلظت‌های 10 ppm، 20، 40 و 80 و BHT به‌عنوان کنترل مثبت در غلظت‌های 5 ppm، 10، 20 و 40 تهیه گردید. سپس غلظت 0/004 درصد از DPPH در متانول تهیه و بعد 50 میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره به آن افزوده و به مدت 30 دقیقه در دمای محیط و در تاریکی، نگهداری شد. سپس جذب نوری محلول در طول موج 517 نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال‌های با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$RSA=[(A_{control}– A_{sample}) /A_{control}]× 100 \% \quad (1)$$

A sample میزان جذب نمونه؛ A control میزان جذب کنترل منفی، RSA فعالیت‌گیرندگی رادیکال است، کنترل منفی فاقد عصاره وتنها حاوی 0/004% DPPH° در متانول و RSA فعالیت حذف‌کنندگی رادیکال را نشان داده و بیان‌گر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد بازدارندگی است.

جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌ها، از شاخص IC50 استفاده شد. این شاخص بیان‌گر غلظتی از عصاره می‌باشد که قادر به کاهش غلظت رادیکال آزاد DPPH اولیه به 50% مقدار اولیه است. در این آزمایش BHT به‌عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته و کلیه آزمایش‌ها سه بار تکرار شدند (Molyneux, 2004).

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن

برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتاکاروتن لینولئیک اسید بدین صورت تهیه گردید: 0/5 گرم بتاکاروتن در 1 میلی‌لیترکلروفرم حل شد و سپس به فلاسک ته گردی که حاوی 25 میکرولیتر لینولئیک اسید و 200 میلی‌گرم توئین 40 بود اضافه و کاملاً مخلوط گردید. سپس در دمای محیط با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخان تحت خلاء، کلروفرم به‌طور کامل تبخیر و خارج گردید، سپس 100 میلی‌لیتر آب مقطر اشباع شده از اکسیژن (30 دقیقه تحت فشار100 میلی‌لیتر در دقیقه) به فلاسک افزوده گردید و فلاسک برای تشکیل امولسیون به شدت همزده شد. 2500 میکرولیتر از محلول تهیه شده فوق به لوله‌های آزمایشی که حاوی 350 میکرولیتر از عصاره و استاندارد BHT (غلظت 2 گرم بر لیتر در اتانول HPLC grade) بود، اضافه گردید، بلافاصله درزمان صفر جذب نمونه‌ها در طول موج 490 نانومتر خوانده و لوله‌های آزمایش به مدت 48 ساعت در دمای اتاق گرمخانه‌گذاری شدند. سپس جذب نوری نمونه‌ها در 490 نانومتر بعد از گرمخانه‌گذاری اندازه‌گیری شد.

در این آزمایش BHT به‌عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی فاقد آنتی‌اکسیدان یا عصاره (فقط حاوی 350 میکرولیتر اتانول)، به‌کار برده شد و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، از مقایسه جذب نوری نمونه‌ها با زمان صفر و از روی میزان پایداری رنگ زرد بتا کاروتن به صورت درصد مورد سنجش قرار گرفت (Society and Firestone, 1989).

فعالیت آنتی‌رادیکالی نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%I= (A_{sample}(48)- A_{control}(48))/ (A_{control}(0) – A_{control}(48))×100 \quad (2)$$

I%= درصد بازدارندگی، Asample(48) = جذب نمونه بعد از 48 ساعت، Acontrol(0)= جذب کنترل در زمان صفر و Acontrol(48) = جذب کنترل بعد از 48 ساعت

بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره میوه گیاه زنیان در روغن کانولا

شیشه‌های حاوی روغن در گروه‌های جداگانه تهیه و عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف به روغن اضافه گردید. آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (کنترل مثبت) در دو تیمار (100 و 200 ppm) و عصاره‌ها هر کدام در سه تیمار (200، 400، 600 ppm) به روغن کانولا بدون آنتی‌اکسیدان، در شیشه‌های تیره رنگ افزوده و درب شیشه‌ها بسته شد. عصاره‌های لیوفیلیزه که به پودر تبدیل شدند با استفاده از روش حرارتی، با نسبت‌های بیان شده به روغن اضافه و جهت تماس بیشتر روغن با پودر و یکنواختی توزیع پودر در روغن، مخلوط حاصله در دستگاه شیکر با 140 دور در دقیقه برای مدت 1 ساعت قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به‌همراه کنترل منفی (روغن کانولا بدون افزودن عصاره وآنتی‌اکسیدان سنتزی و طبیعی، به‌عنوان شاهد) برای مدت 49 روز در انکوباتوردر دمای 3±60 درجه سانتی‌گراد، در غیاب نور قرار داده شد. هر هفته ضمن همزدن روغن‌ها با استفاده از شیکر، مقادیر عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن اندازه‌گیری شد. آزمایشات به مدت 49 روز در روزهای صفر ،7, 14، 21، 28، 35، 42 و 49 تکرار گردید.

عدد پراکسید روغن (Peroxide value):

برای تعیین عدد پراکسید، 2 گرم روغن در30 میلی‌لیتر استیک اسید و کلروفرم (به نسبت 3 به 2) حل گردید. سپس 1 میلی‌لیتر محلول اشباع یدید پتاسیم به آن افزوده گردید. بعد از 1 دقیقه نگهداری در تاریکی، 30 میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه و محلول ساخته شده به‌وسیله تیوسولفات سدیم 0/02 نرمال در حضور محلول نشاسته 1% به‌عنوان معرف تا از بین رفتن رنگ آبی تیتر گردید.

تمامی مراحل فوق برای کنترل بدون افزودن روغن به‌صورت موازی انجام شد. عدد پراکسید با استفاده از فرمول زیر بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در هر کیلوگرم (meq/kg) روغن محاسبه شد:

$$PV(meq/kg) = (100(s_1-s_2)\times N) / W \quad (3)$$

در رابطه فوق S_1 میزان میلی لیتر مصرفی تیوسولفات سدیم برای تیتراسیون نمونه، S_2 میزان میلی لیتر مصرفی تیوسولفات سدیم برای تیتراسیون کنترل، N نرمالیته تیوسولفات سدیم مصرفی و w وزن روغن مورد آزمایش می‌باشد (Society and Firestone, 1989).

اندازه‌گیری اندیس تیوباربیتوریک اسید (TBARS)

عدد TBARS به روش AOCS سال 1998 انجام شد. در این روش مقدار 50 میلی‌گرم از نمونه روغن در 10 میلی‌لیتر از 1- بوتانول حل و سپس10 میلی‌لیتر از محلول 0/2% تیوباربیتوریک اسید به آن اضافه و برای مدت 2 ساعت در بن ماری 95 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از آن به مدت 10 دقیقه سرد گردید (زیر شیر آب)، سپس جذب محلول در طول موج 532 نانومتر در مقابل بلانک قرائت شد. عدد TBARS بر اساس میلی‌مول مالون دی‌آلدئید در گرم روغن گزارش گردید. آزمایشات سه بار تکرار و میانگین آن‌ها گزارش شد (Selmi *et al*., 2011).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون (One- Way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS16 و رسم نمودارها با نرم‌افزار EXCEL صورت گرفت و IC_{50} با استفاده از نرم‌افزار PHARM تعیین و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت‌های معنادار (LSD) انجام شد. تمامی نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار± انحراف معیار بیان شد.

نتایج و بحث

مقدار کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و بازده استخراج

با توجه به جدول 1، نتایج به‌دست آمده نشان داد که نوع حلال مورد استفاده تاثیر معناداری ($p<0/05$) بر مقدار کل ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و بازده استخراج هر یک از عصاره‌ها داشته است. مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره‌های استخراج شده از گیاه *زنیان* توسط حلال‌های اتانول 96% و متانول 80% به‌ترتیب بین 13/45، 34/ 18 و برای عصاره آبی 15/86 (گرم معادل گالیک اسید/ 100 گرم عصاره خشک) و 1/5- 3/72 و برای عصاره آبی 2/68(گرم معادل کوئرستین/ 100 گرم عصاره خشک) متغیر بود. پژوهش‌های فراوانی در زمینه استخراج ترکیبات فنولی از گیاهان مختلف با استفاده از حلال‌های مختلف انجام شده است(Chirinos *et al*., 2007; Lapornik *et al*., 2005; Negi and Jayaprakasha, 2003). در این پژوهش‌ها، تفاوت در قطبیت حلال‌ها و میزان حلالیت ترکیبات فنولی در این حلال‌ها، دلیل اصلی تفاوت در مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌های استخراج شده می‌باشد. اوما و همکاران (2010) گزارش کردند که استخراج ترکیبات فنولی از برگ حنا با استفاده از حلال استون 60% در مقایسه با اتانول 60% و متانول 60% ،کارایی بیشتری داشت. در مطالعه حاضر اتانول 96%، بیشترین کارایی را در استخراج ترکیبات فنولی به‌خود اختصاص داد. بازده استخراج و مقدار کل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در عصاره‌های اتانولی، آبی و متانولی به ترتیب کاهش یافت. به‌طور کلی ویژگی‌های آبدوستی و آبگریزی ترکیبات شیمیایی گیاه تاثیر مهمی بر حلالیت آن‌ها در حلال مورد استفاده جهت استخراج دارد. از این رو قطبیت حلال می‌تواند نقش مهمی در کارایی استخراج این ترکیبات داشته باشد (Tsao and Deng, 2004).

جدول 1- مقایسه میانگین مقادیر بازده استخراج، مقدار کل ترکیبات فنولی و ترکیبات فلاونوئیدی عصاره‌های حاصل از میوه گیاه زنیان

نوع عصاره	مقدار کل ترکیبات فنولی (میلی‌گرم گالیک اسید/100 گرم نمونه خشک)	مقدار کل ترکیبات فلاونوئیدی (میلی‌گرم کوئرستین/100 گرم نمونه خشک)	بازده استخراج
اتانولی 96٪	18/34±0/14[a]	3/72±0/ 3 [a]	20±0/18[a]
آبی	15/86±۰/17 [b]	2/68±0/1[b]	16±0/2[b]
متانولی 80٪	13/45±0/21[c]	1/5±0/4[c]	13±0/81[c]

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 5٪ می‌باشد.

ارزیابی قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی و الکلی میوه گیاه زنیان

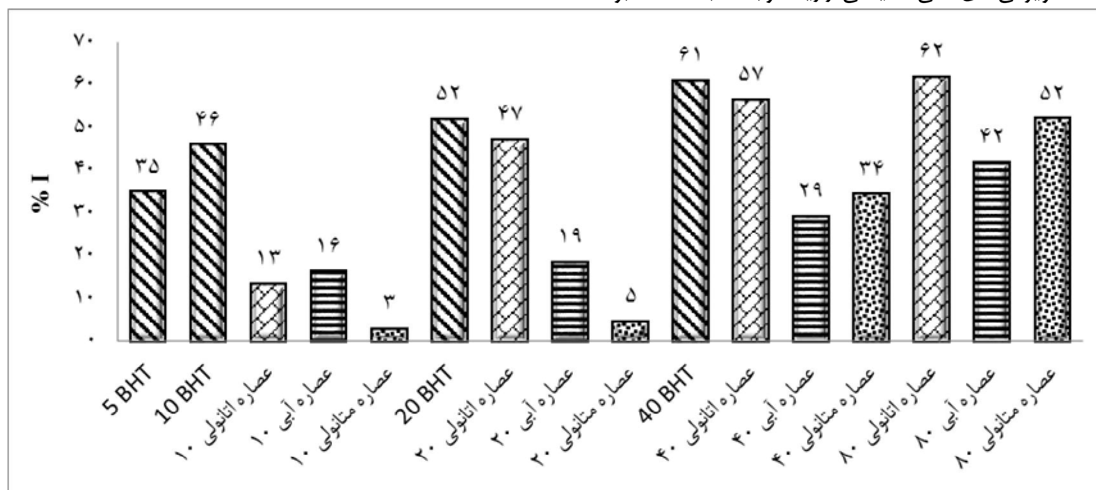
شکل 1 میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها و BHT را نشان می‌دهد. با توجه به شکل‌ها می‌توان دریافت ارتباط مستقیمی بین غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی و الکلی زنیان با قدرت مهار رادیکال آزاد (I%) آن‌ها وجود دارد و با افزایش غلظت عصاره‌ها، قدرت مهار رادیکال آزاد نیز افزایش پیدا می‌کند. همچنین با استفاده از آزمایش DPPH، IC50 عصاره‌های آبی و الکلی زنیان وBHT در

جدول 2 نشان داده شده است. IC50 نسبت عکس با فعالیت آنتی‌رادیکالی عصاره‌ها دارد، هرچه IC50 کوچک‌تر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر است. با توجه به نتایج به‌دست آمده بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره اتانولی بود.

جدول 2- IC50 نمونه‌ها با آزمون DPPH

نمونه	IC_{50}(µg/ml)
عصاره آبی	39±1/45[c]
عصاره اتانولی	31/5±0/7[b]
عصاره متانولی	37±0/ 2 [c]
BHT	4/5 ±1/9[a]

همان‌گونه که مشاهده می‌شود، عصاره‌ها در مقایسه با BHT به‌عنوان کنترل مثبت (1/9 ±4/5)، در مهار رادیکال‌های آزاد ضعیف‌تر عمل کرده است ($p>0/05$). ژانگ و همکاران (2010) اسیدکارنوسیک را به روغن آفتابگردان اضافه نمودند و پایداری اکسایشی آن را در شرایط اکسیداسیون تسریع شده بررسی کرده و با انجام آزمون DPPH دریافتند فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسیدکارنوسیک از آنتی اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT بالاتر بوده ولی در مقایسه با TBHQ فعالیت کمتری نشان داد. در مطالعه‌ای دیگر اوکتایا و همکاران (2003) به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و آبی دانه رازیانه پرداختند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی رازیانه وابسته به غلظت بود و با افزایش غلظت افزایش یافت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت، با افزایش غلظت، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش معناداری می‌یابد که این امر می‌تواند ناشی از تأثیر افزایش درصد مواد اثرگذار و نیز افزایش محتوای کل فنولیک آن‌ها باشد. چرا که ثابت شده ترکیبات فنولیک دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای هستند. همان‌گونه که در این تحقیق نیز مشخص شد با افزایش غلظت در محدوده غلظتی به‌کار رفته شده، فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH افزایش و سرعت بی‌رنگ شدن DPPH در حضور آن کاهش یافت. همچنین جهت بررسی بهتر فعالیت آنتی رادیکالی عصاره‌ها، از شاخص IC50 استفاده شد. در مطالعه‌ای عباس و همکاران (2006) IC50 عصاره متانولی ریحان و آسکوربیک اسید را به‌ترتیب 0/190 و 0/006 میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کردند. در ارزیابی دیگری میزان IC50 عصاره متانولی پونه کوهی 4/ 74 ماکروگرم بر میلی‌لیتر اعلام گردید (Gulluce *et al*., 2007)، که در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر، فعالیت آنتی‌رادیکالی ضعیف‌تری از خود نشان داد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمون DPPH، مشخص گردید که IC50 عصاره مورد مطالعه، وضعیت مطلوبی دارد و به دلیل کمتر بودن مقدار آن، فعالیت آنتی‌رادیکالی نسبتاً خوبی رانسبت به سایر عصاره گیاهان نشان داد و در مهار رادیکال‌ها تقریباً در سطح بالایی عمل کرد.

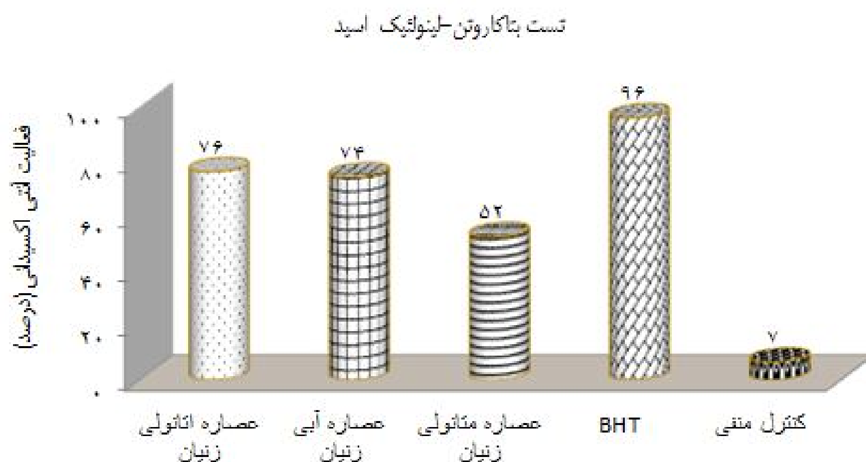


شکل1- رابطه میان فعالیت گیرندگی رادیکال DPPH° با غلظت های مختلف عصاره آبی زنیان و BHT
I%= درصد مهار رادیکال آزاد، CA= عصاره آبی، CE= عصاره اتانولی و CM= عصاره متانولی

آزمایش بتاکارتن-لینولئیک اسید

وجود ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌ها، اکسیداسیون بتاکاروتن را توسط هیدروپراکسیدها به حداقل می‌رساند. به همین منظور فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بر اساس توانایی آن‌ها در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش اکسیداسیون در سیستم امولسیون بتاکارتن/ لینولئیک اسید ارزیابی شد. شکل 2،

درصد بازدارندگی عصاره‌های مختلف زنیان را در مقایسه با BHT نشان می‌دهد. با توجه به این شکل، از نظر آماری تفاوت معناداری بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی با سایر عصاره‌ها وجود دارد ($p<0/05$). در این آزمایش در بین عصاره‌های گیاه، عصاره اتانولی بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد($p<0/05$). بامداد و همکاران (2006) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زیره سیاه را با دو روش DPPH و بی‌رنگ شدن بتاکاروتن بررسی کردند و نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این عصاره مربوط به ترکیبات فنولی آن می‌باشد. همچنین واناسوندارا و همکاران (1994)گزارش کردند که، می‌توان روغن کانولا را با عصاره آرد کانولا و روغن شلغم روغنی در برابر اکسیداسیون پایدار نمود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره می‌تواند مربوط به حضور ترکیبات فنولیک باشد. یک همبستگی بین سرعت تخریب و بی‌رنگ شدن بتا کاروتن وجود دارد، به این صورت که عصاره‌ای باسرعت تخریب کمتر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نشان می‌دهد و بالعکس. در این تحقیق، بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی در سامانه بی‌رنگ شدن بتاکاروتن مربوط به BHT در غلظت 2 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. و پس از آن، عصاره اتانولی در مرتبه بعدی قرار گرفت و هیچ اثری در گروه کنترل دیده نشد. با مطالعه و بررسی نتایج دیگران و مقایسه آن‌ها با نتایج این پژوهش می‌توان دریافت که بین نتایج به‌دست آمده از دو روش مورد استفاده، ارتباط مستقیم و مثبتی وجود دارد. بر اساس هر دو روش اثر مهاری عصاره‌ها از BHT کمتر بوده است.



شکل 2- مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و الکلی میوه گیاه زنیان با BHT به روش بی‌رنگ شدن بتاکارتن بر حسب غلظت 2 گرم بر لیتر اتانول

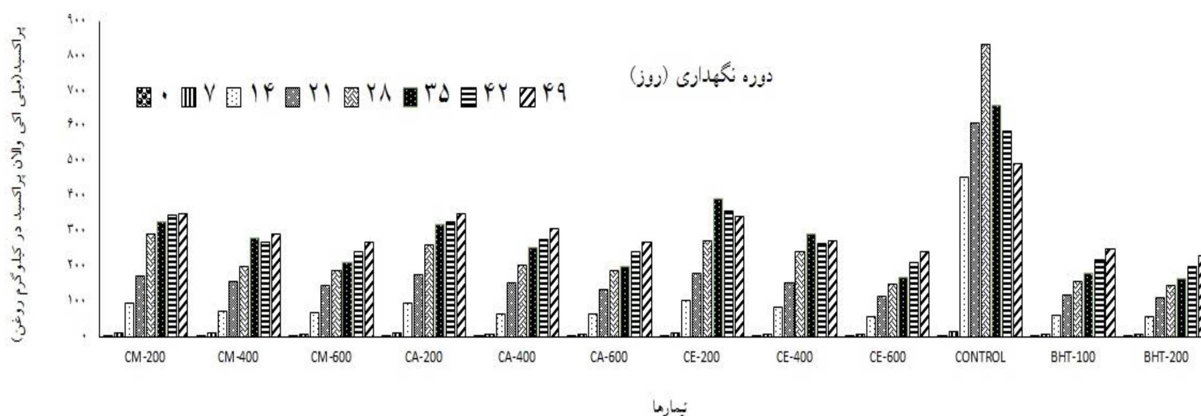
بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های الکلی و آبی زنیان و مقایسه اثرات آن‌ها در روغن کانولا:

برای این منظور نمونه‌های روغن با استفاده از تیمارهای مختلف تهیه وسپس پایداری اکسیداتیو و ماندگاری آن‌ها در گرمخانه 60°C، در مقایسه با نمونه‌های حاوی BHT بررسی شد. و عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در روزهای صفر، 7، 14، 21، 28، 35، 42 و 49 اندازه‌گیری شد.

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی بر عدد پراکسید (PV)

با توجه به شکل 3 در طول مدت نگهداری، کنترل به‌طور معنادار ($p<0/05$) از تمام تیمارها عدد پراکسید بالاتری داشت. CE و CA در سطح غلظتی 600 ppm نسبت به کنترل اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی داشتند، و CE اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری را نسبت به CA از خود نشان داد و با BHT-100 اختلاف معناداری مشاهده نگردید ولی BHT-200 به طور معنادار ($p<0/05$) از تمام تیمارها، اثر آنتی‌اکسیدانی بالاتری در ارتباط با پایداری روغن از خود نشان داد. BHT در هر دو سطح غلظتی 100 و 200 ppm، به‌صورت معنادار در طی دوره آزمایش تا پایان دوره از تمامی تیمارها قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را نشان داد ($p<0/05$) و بعد از آن عصاره اتانولی در سطح غلظتی 600 ppm قرار گرفت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با عدد پراکسید نسبت عکس دارد، هرچه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر باشد، عدد پراکسید روغن پایین‌تر است. همان‌گونه که ملاحظه می‌کنید، عدد پراکسید روغن وابسته به غلظت تیمارها است و با افزایش غلظت تیمارها (تا اندازه‌ای که اثرات پرواکسیدانی نداشته باشد)، عدد پراکسید کاهش و در نتیجه اثرات آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است ($p<0/05$)

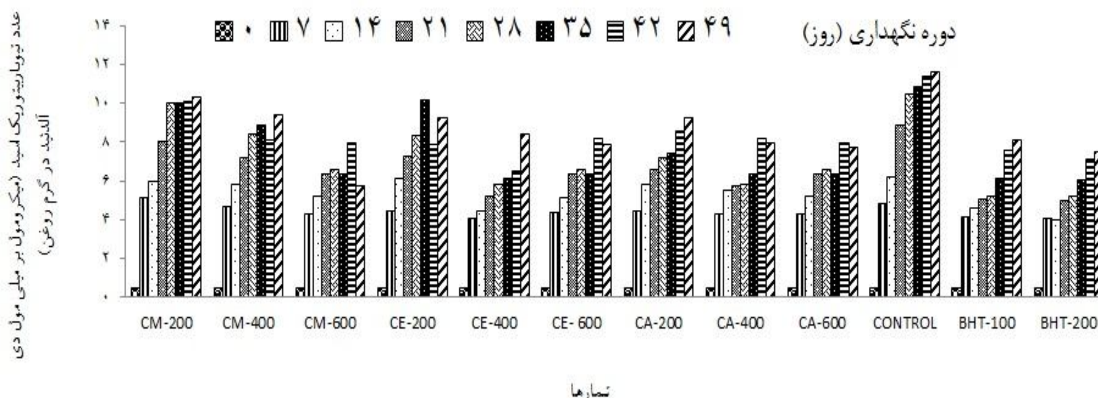
و یک رابطه خطی بین غلظت عصاره‌ها و عدد پراکسید دیده شد. با توجه به آزمون انجام گرفته می‌توان دریافت که، توانایی کاهش روند اکسیداسیون عصاره اتانولی زنیان در سطح غلظتی 600 ppm عمدتا به‌علت بالاتر بودن ترکیبات فنولی استخراج شده آن می‌باشد. بوتا و همکاران (2013) اثر عصاره برگ گیاه بادرنجبویه را با BHT در به تاخیر انداختن اکسیداسیون روغن آفتابگردان، مقایسه نمودند و دریافتند که عصاره اتانولی بادرنجبویه در مقدار 200 ppm در جلوگیری از اکسیداسیون، تقریبا مشابه BHT بود. ابوطالبیان (2006) گزارش کرد که، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره نعناع، پونه و ریحان در روغن آفتابگردان به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در غلظت 600 ppm با اثر آنتی‌اکسیدانی BHT در غلظت 200 ppm قابل قیاس است و در میان گیاهان استفاده شده، عصاره استخراجی از گیاه پونه بالاترین اثر آنتی‌اکسیدانی را از خود نشان داد و به دنبال آن گیاهان نعناع و ریحان قرار گرفتند. همچنین در مطالعه حاضر عصاره اتانولی زنیان در سطح غلظتی 600 ppm بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشت. در تحقیق دیگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه ***Satureja cilicica*** را در کره بررسی و تغییرات عدد پراکسید در روزهای بیستم، چهلم و شصتم گزارش گردید. ارزیابی اعداد پراکسید نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای این اسانس در کره بود، و با افزایش غلظت، اثر آنتی‌اکسیدانی آن افزایش یافت. این محققین گزارش کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مرزه ***Satureja cilicica*** می‌تواند به ترکیبات فنولیک آن نسبت داده شود (Ozkan *et al*., 2007). با توجه به گزارشات ارائه شده توسط محققین فوق، مشاهده گردید با افزایش غلظت اثرات آنتی‌اکسیدانی نیز بیشتر شد که این گزارشات با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مطابقت داشت.



شکل 3- اثر عصاره های آبی، اتانولی و متانولی زنیان روی عدد پراکسید در مقایسه با BHT وکنترل در دمای 60C°

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی بر TBARS:

با توجه به این که عدد پراکسید به تنهایی مشخص‌کننده اکسیداسیون روغن نمی‌باشد، عدد TBARS نیز اندازه‌گیری می‌گردد شکل 4 پارامتر TBARS را در روغن کانولا حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در مقایسه با BHT وکنترل نشان می‌دهد. در ارتباط با TBARS شکل‌گیری محصولات ثانویه مثل مالون دی‌آلدئید از روز 7 به طور واضح شروع شد ولی از نظر آماری بین تیمارها تا روز 7، تفاوت معنادار مشاهده نشد ($p>0/05$). از اولین روزهای آزمایش دیده شد که BHT در سطح غلظتی 200 ppm به‌طور معنا دار نسبت به سایر تیمارها عدد TBARS کمتری داشت و بیشترین میزان جلوگیری از تولید محصولات ثانویه اکسیداسیون را نشان داد، و کنترل به‌طور معنادار ($p<0/05$) از تمام تیمارها عدد TBARS بالاتری داشت. از روز 7 تا پایان دوره بین تیمارهای CA و CE با BHT در سطح غلظتی 100 ppm اختلاف معناداری مشاهده نگردید($p<0/05$) پارامتر TBARS در CM کمترین میزان اثر آنتی‌اکسیدانی را داشت و نتایج TBARS بسیار مشابه عدد پراکسید بود. تمام تیمارها به‌طور معنادار نسبت به کنترل، عدد TBARS کمتری را نشان دادند. همان‌گونه که ملاحظه می‌شود، عدد TBARS روغن به مانند عدد پراکسید، وابسته به غلظت تیمارها است و با افزایش غلظت، عدد TBARS کاهش و در نتیجه اثرات آنتی‌اکسیدانی افزایش می‌یابد.



شکل 4- اثر عصاره آبی، متانولی و اتانولی زنیان روی عدد TBARS در مقایسه با BHT وکنترل در دمای 60 °C

کامکار و همکاران (2010) نشان دادند که، عصاره پونه ایرانی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در روغن آفتابگردان دارد. در تحقیق دیگر، ویژگی‌های ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی مربوط به روغن فرار رازیانه و عصاره استونی آن را، در روغن کتان مورد بررسی قرار گرفت و با اندازه‌گیری مقادیر اندیس پراکسید و TBARS بر روغن کتان، نشان دادند که هم روغن فرار و هم عصاره استونی رازیانه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با BHA و BHT دارد (Singh *et al.*, 2006). پاپاویچ (2008) به بررسی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی جعفری، آویشن و رازیانه بر روی روغن آفتابگردان غنی شده پرداخت. او نشان داد که آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی گیاهان تحت بررسی در پایداری روغن آفتابگردان موثر می‌باشند. یاسوبی و همکاران (2007) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار (*Punica granatum*) را در روغن سویا، در دمای 60 درجه سانتی‌گراد بررسی کردند. نتایج حاکی از آن بود که عصاره استونی پوست انار در سطح غلظتی 0/05 درصد به علت دارا بودن ترکیبات فنولی اثرات آنتی‌اکسیدانی بالاتری در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های BHT و BHA در سطح غلظتی 0/02 درصد داشت. از آنجایی که عصاره زنیان دارای مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولیک است و با توجه به این که عصاره اتانولی زنیان بالاترین میزان از ترکیبات فنولی را به‌خود اختصاص داده قادر به مهار اکسیداسیون اولیه و ثانویه در روغن کانولا در سطح غلظتی 600 ppm در طول نگهداری می‌باشد. نتایج این تحقیق نیز از نظر روند تغییر عدد TBARS در طی دوره نگهداری در شرایط اکسیداسیون و تاثیر غلظت‌های افزوده به روغن در مقایسه با آنتی اکسیدان‌های سنتزی مشابه نتایج محققان فوق بوده است.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی بر روی توان بالقوه منابع طبیعی به‌عنوان آنتی اکسیدان‌ها متمرکز شده است که در طراحی پژوهش حاضر مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در این تحقیق نشان داده شد که انواع عصاره‌های زنیان با توجه به ترکیبات فنولی دارای اثر آنتی‌اکسیدانی خوبی می‌باشد و آزمون‌های مختلف، اثرات آنتی‌اکسیدانی آن را تصدیق می‌نمایند. بنابراین عصاره میوه گیاه زنیان به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد ناشی از اکسایش را داشته و می‌توان با انجام آزمایش‌های تکمیلی، به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی در صنعت به‌کار رود.

تشکر و قدردانی

این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرنت شماره 3631/8) دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام شده است، بدینوسیله از حمایت‌های مالی مدیر محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تخصصی فناوری نوین آمل صمیمانه قدردانی می‌شود.

منابع

Abas, F., Lajis, N.H., Israf, D., Khozirah, S. & Kalsom, Y.U., 2006, Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chemist*ry, 95(4), 566-573.

Abas, F., Lajis, N.H., Israf, D., Khozirah, S. & Kalsom, Y.U., 2006, Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chemistry*, 95(4), 566-573.

Abutalebian, M., 2006, The extraction of phenolic compounds from peppermint, pennyroyal and sweet basil and comparison of their antioxidative effect in sunflower oil. Journal of Food Sciences and Technology, 8, 25-34

Achat, S. et al., 2012, Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. U*ltrasonics Sonochemistry*, 19(4), 777-786.

Achir, N., Kara, W., Chipeaux, C., Trezzani, I. & Cuvelier, M.E., 2006, Effect of energy transfer conditions on the chemical degradation of frying oil. *European Journal of Lipid Science and Technology,* 108(12), 999-1006.

Al-Bandak, G. & Oreopoulou, V., 2011, Inhibition of lipid oxidation in fried chips and cookies by Majorana syriaca. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(2), 290-296.

Ashraf, M., 2002, Salt tolerance of cotton: some new advances. Critical Reviews in Plant Sciences, 21(1), 1-30.

Ashraf, M. & Orooj, A., 2006, Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* [L.] Sprague). *Journal of Arid Environments*, 64(2), 209-220.

Augustin, M. & Berry, S., 1983, Efficacy of the antioxidants BHA and BHT in palm olein during heating and frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(8), 1520-1523.

Bamdad, F., Kadivar, M. & Keramat, J., 2006, Evaluation of phenolic content and antioxidant activity of Iranian caraway in comparison with clove and BHT using model systems and vegetable oil. *International Journal of Food Science & Technolog*y, 41(1), 20-27.

Bera, D., Lahiri, D. & Nag, A., 2006, Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. *Journal of food Engineering*, 74(4), 542-545.

Buta, N. et al., 2013, The antioxidant effect of Melissa officinalis extract regarding the sunflower oil used in food thermal aplications. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 19, 276-279.

Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M. & Chern, J.-C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3),111- 117.

Chirinos, R., Rogez, H., Campos, D., Pedreschi, R. & Larondelle, Y., 2007, Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (Tropaeolum tuberosum Ruíz & Pavón) tubers. *Separation and Purification Technology*, 55(2), 217-225.

Espin, JC., Soler- Rivas, C,. & Wichers, HJ., 2000, Characterisation of the total free radical scavenger capacity of vegetabale oils and oil fractions using, 2,2 - diphenyl- 1-picryl hydrazyl radical. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 648 - 656.

Grandgirard, A., 1992, Transformations des lipides au cours des traitements thermiques. Effets nutritionnels toxicologiques. Les Cahiers de l'ENSBANA, 8, 49-67.

Grosch, W., 1987, Reactions of hydroperoxides-products of low molecular weight. Autoxidation of Unsaturated lipids. 95-139.

Gulluce, M. et al., 2007, Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from Mentha longifolia L. ssp. longifolia. *Food Chemistry*, 103(4), 1449-1456.

Houhoula, D.P., Oreopoulou, V. & Tzia, C., 2004, Antioxidant efficiency of oregano in frying and storage of fried products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(11), 746-751.

Kalantzakis, G. & Blekas, G., 2006, Effect of Greek sage and summer savory extracts on vegetable oil thermal stability . *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108(10), 842-847.

Kamkar, A ,.Javan, A.J., Asadi, F. & Kamalinejad, M., 2010, The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicolog*y, 48(7), 1796-1800.

Krishnamoorthy, V., 1999, Madalageri MB. Bishop weeds (*Trachyspermum ammi*): An essential crop for north Karnatka. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 21(4), 996-998.

Lapornik, B., Prošek, M. & Wondra, A.G., 2005, Comparison of extracts prepared from plant by-products using

different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71(2), 214-222.

Man, Y.B.C. & Jaswir, I., 2000, Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 69(3), 301- 307.

Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*, 26(2), 211-219.

Munns, R., 2002, Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell & Environment, 25(2), 239-250.

Negi, P. & Jayaprakasha, G., 2003, Antioxidant and antibacterial activities of Punica granatum peel extracts. *Journal of Food Science*, 68(4), 1473-1477.

Oktay, M., Gülçin, İ. & Küfrevioğlu, Ö.İ., 2003, Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (Foeniculum vulgare) seed extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 36(2), 263-271.

Ozkan, G., Simsek, B. & Kuleasan, H., 2007, Antioxidant activities of Satureja cilicica essential oil in butter and in vitro. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1391-1396.

Parkash Kochhar, S. & Gertz, C., 2004, New theoretical and practical aspects of the frying process. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(11), 722-727.

Pereira Moura Aranha, C. & Jorge, N., 2012, Antioxidant potential of oregano extract (*Origanum vulgare* L.). *British Food Journal*, 114(7), 954-965.

Peyrat-Maillard, M., Cuvelier, M.-E. & Berset, C., 2003, Antioxidant activity of phenolic compounds in 2, 2′-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. *Journal of the American Oil Chemists' Societ*y, 80(10), 1007-1012.

Popovich, K., 2008, The influence of natural antioxidants on the oxidative stability of iodine-fortified sunflower oil in the process of storage. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*, 44(5), 415-421.

Selmi, S., Limam, Z., Batista, I., Bandarra, N.M. & Nunes, M.L., 2011, Effects of storage temperature and α-tocopherol on oil recovered from sardine mince. *International Journal of Refrigeration*, 34(5), 1315-1322.

Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, MA .,Naghdibadi, H., 2008, of Antioxidant activity essential oil of Zataria multiflora Boiss.) in soy oil. *Journal of Medicinal Plants*, 28, 56 –68 .

Singh, G., Maurya, S., De Lampasona, M. & Catalan, C., 2006, Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of Foeniculum vulgare volatile oil and its acetone extract. Food control, 17 (9), 745- 752

Slinkard, K. & Singleton, V.L., 1977, Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.

Society, A.O.C. & Firestone, D., 1989, Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society, 5. AOCS Champaign, IL.

Tsao, R. & Deng, Z., 2004, Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography* B, 812(1), 85-99.

Uma, D., Ho, C. & Wan Aida, W. ,2010, Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) leaves. *Sains Malaysiana*, 39(1), 119-128.

Wanasundara, U.N. & Shahidi, F., 1994, Stabilization of canola oil with flavonoids. *Food Chemistry*, 50(4), 393- 396.

Warner, K., 2005, Effects on the flavor and oxidative stability of stripped soybean and sunflower oils with added pure tocopherols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 9906-9910.

Yanishlieva, N.V., Kamal-Eldin, A., Marinova, E.M. & Toneva, A.G., 2002, Kinetics of antioxidant action of α-and γ-toco-pherols in sunflower and soybean triacylglycerols. European *Journal of Lipid Science and Technology*, 104(5), 262-270.

Yasoubi, P., Barzegar, M., Sahari, M. & Azizi, M., 2010, Total phenolic contents and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extracts. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9, 35-42.

Zhang, Y. et al., 2010, Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. *Food Chemistry*, 118(3), 656-66

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 1, Apr. May. 2019, p.13- 24

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1398 ص.24-13

Improvement of the Oxidative Stability of Canola Oil Using *Carum copticum* fruit extracts as a Natural Antioxidant

F. Tooryan[1*], M. Azizkhani[2]

Received: 2016.11.05
Accepted: 2017.05.08

Introduction: Lipids are valuable foods that operate as the medium of heat transfer to the food and susceptible to oxidation on storage and frying processes. Lipid oxidation is one of the major cause of food quality deterioration during storage for vegetable oils, fats and other food systems. The free radical are defined as any chemical species having one or more unpaired electrons is generally responsible for the deterioration and limiting the shelf life of fatty foods. Characteristic changes associated with oxidative deterioration include development of unpleasant tastes and odors as well as changes in color, specific gravity, viscosity and solubility .Moreover, the products of lipid oxidation may be potentially toxic and may lead to adverse effects such as the production of carcinogens, mutagenesis and aging. Autoxidation occurs when molecular oxygen reacts with unsaturated lipids like canola oil. Antioxidants are a group of chemicals affect the process of lipid oxidation at different stages and capable of extending the shelf life of food that contain lipids. In general, food industry have been added and applied the synthetic antioxidants such as BHA (Butylated hydroxyl anisole), BHT (Butylated hydroxyl anisole) and TBHQ (Tert-butyl hydroquinone) during the manufacturing process to retard lipid oxidation and prevent fat oxidative and rancidity. They are used to retard the development of unpleasant flavour caused by the oxidation of unsaturated fatty acids. They retard oxidation of lipids by reacting with free radicals, chelating free catalytic metals and also by acting as oxygen scavengers. However, there is concern about the safety and toxicity of synthetic antioxidants in relation to their metabolism and accumulation in body organs and tissues. Synthetic antioxidants are known among other things to cause impairment of blood clotting, lung damage and to act as tumor promoters. Consumers acceptance of synthetic antioxidants remains negative due to their perceived detrimental effect on human health like carcinogenic effects. Consequently, This has led to an increasing trend and interest in the search for effective natural antioxidant and there has been a tendency towards natural antioxidants and replace of these synthetic antioxidants with natural ones such as phenolic compounds. Finding new resources of vegetal antioxidants in order to use them in food (as an additive or alternative with artificial antioxidants) is an important research subject in the field of food science and technology.Researches on alternative natural products such as aromatic plants extract and essential oil have been extended. Phenolic compounds are defined as substances possessing a benzene ring bearing one or more hydroxyl substituents, including their functional derivatives. There are different sources of phenols such as grapes, olive oil, sorghum, beans, spices and herbs. Aromatic plants are used traditionally in various regions of Iran for their preservation and medicinal properties, in addition to enhancing the aroma and flavor of foods. Aromatic plants components that have antiradical activities were used as natural antioxidant in food and biological products. *Carum copticum (C. copticum*)is well known and valuable medicinal plant that is used widely in Iranian traditional medicine. In this study *C. copticum* ,as natural antioxidant, was added to Canola oil for improving its oxidative stability .The aim of this research was to evaluate the antioxidant properties of *C. copticum* extracts (aqueous and alcoholic),and its antioxidant activity in canola oil

Materials and methods: In this study, aqueous and alcoholic extract of *C. copticum* fruit was extracted as a natural antioxidant. In the first stage, the amount of phenolic compounds content in extracts were measured. Then to determine antioxidant power and activity of extracts the two methods was investigated, DPPH◦ free radical scavenging and β-carotene/linoleic acid system. Each extract at three concentrations of 200 ppm ,400ppm and 600ppm added to canola oil and storage in a period of 49 days. BHT were added to Canola oil at 100 and 200ppm. Also their oxidative stability in canola oil was investigated by measuring peroxide and thiobarbituric acid values.

1 and 2. Asistant professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran.
(*- Corresponding Author Email: tooryanf@ut.ac.ir)

Results & discussion: The results showed that, *C. copticum* has good total phenolic content and in β-caroten bleaching assay, by concentration of 2 mg/ml BHT showed the highest inhibition effect (%96 ± 0.09) and followed CE (%76±0.0). In DPPH◦ free radical scavenging and β-carotene/linoleic acid systems, the sequence of the power of antioxidant activity was BHT then CE in concentration of 400 and 600 ppm. In oven test, all extracts inhibited primary and secondary oxidation products of canola oil. Statistical results revealed that CE in concentration of 600 ppm, did not showed significant difference for PV and TBARS comparing with 200 ppm BHT($p>0.05$). But CA and CM had lower antioxidant activity in comparision with 200 ppm BHT ($p<0.05$). Acocording to results, *C. copticum* is a potent antioxidant for stabilization of canola oil and can be used as a natural antioxidant. It seems that after complementary test because of appropriate antioxidant activity, *C. copticum* can be used as natural antioxidant in foodstuff, especially in edible oils to improve the oxidative stability of canola oil.

Key words: Carum copticum, extracts, antioxidant activity, canola oil